

## 1. Bevezetés

A titán a kilencedik leggyakrabban előforduló elem a Földön. Viszonylag könnyű, de kemény fém, ezért számos területen hasznosítják. Biokompatibilitása miatt az orvostudomány területén, különösen a sebészetben alkalmazzák. Fogászati felhasználása széleskörű, rögzített és kivehető fogműveket készítenek belőle. Ötvözeit használják fogszabályozó záruk és fém ívek készítésére. Napjainkban a fogbeültetés igen gyakori beavatkozás, ahol az implantált műgyökerek legmegfelelőbb alapanyaga a tiszta titán, amely biokompatibilitása miatt kevésbé allergizál. A titán implantátumok felületén spontán passzív oxid réteg ( $\text{TiO}_2$ ) alakul ki, amelynek vastagsága eléri a 25 nm-t.

A beültetett titán implantátum sikerességét első lépésben a műgyökér állcsontban való rögzülésének minősége határozza meg. 3-6 hónap múlva azonban, amikor a csontos rögzülés már megfelelően kialakult és a felépítményt a fogorvos elkészítette, a páciensek az implantátumot túlterhelés, nem megfelelő szájhigiénia miatti bakteriális fertőzés, késői csontosodási problémák miatt elveszíthetik.

A fogászati implantátumok sikertelenségét leggyakrabban a lágy és kemény szövetek gyulladásos folyamatai okozzák. Az implantátum nyaki (transzmukozális) részénél kialakuló hámtapadás meggátolja, hogy a baktériumok a marginális gingiva alá jussanak. A hámtapadás a sima és az egyenetlen felszínen hemideszmoszómális kapcsolat útján alakul ki. Az egyenetlen felszín kedvez a plakk akkumuláció létrejöttének, amely peri-implantáris gyulladások kialakulását idézi elő. Ezek közé sorolhatjuk a peri-implantáris mucosist, amely a lágy szövetek visszafordítható, csontvesztés nélküli gyulladásos elváltozása és a peri-implantitist, amely csontvesztéssel járó gyulladásos folyamat.

A nemzetközi irodalomban, a transzmukozális résznél  $0,2\ \mu\text{m}$  alatti érdesség mechanikai kialakítását tartják kívánatosnak. A terület fizikai tulajdonságai mellett, a kémiai jellemzők is fontos szerepet játszanak. A felszínen kialakult natív  $\text{TiO}_2$  réteg véd az oxidatív behatásoktól, de ezt a homogén réteget a redukciós folyamatok megbontják. Ha a felületi érdesség és a kompakt oxidréteg a titán felszínén megváltozik, korróziós folyamatok indulhatnak el az implantátumon, ami befolyásolhatja a felszínre tapadt baktérium biofilm mennyiségét.

A fogorvosi gyakorlat fokozott figyelmet fordít a megelőzésre, ebben segítséget nyújtanak a különböző fluorid-tartalmú fogkrémek, szájöblítők és helyileg alkalmazott prevenciós gélek. E készítményekben a fluorid koncentrációja széles határok (1000-10000 ppm) között mozoghat. Mivel a szájjápolási termékek pH értéke savas kémhatású, ez a titán felületi oxidrétegét megtámadja, növeli a megfelelően előkészített titán felszín érdességét és kémiai elváltozást idéz elő a felületen. Összességében, ezek a felszíni módosulások a fém korrózióját okozhatják, ami a szájból hosszú távon a fogpótlás, a beültetett implantátum és a fogszabályozó készülék minőségét rontja.

A szájüregben jelenlévő patogén baktériumok eliminálása állandó feladat mind a fogorvos, mind a páciensek számára. Az érdekesebb, a prevenciós szerek használata következtében

megváltozott titán felszín rontja a fém korrózió-stabilitását, ami elősegíti a baktériumok megtapadását és elszaporodását.

Kutatási témám ahhoz a Ph.D. programhoz kapcsolódik, amely a titán felületkezelését vizsgálja és a különböző kémiai anyagok hatását elemzi annak felszínén. Gyakorló fogorvosként sokszor találkozom szájba beültetett, különböző gyártmányú, de hasonló minőségű titánból készült implantátumokkal. A titán implantátumok szájüregbe nyúló felépítménye (műcsonk) szinte fogművel teljesen fedett (korona, híd), így nem vagy csak a nyaki részen érintkezik a szájmilióval. Az implantátum nyakán kialakuló hámtapadás fölötti rész védtelen, mivel folyamatosan ki van téve a különböző ételek és italok behatásának. Szélsőséges esetektől eltekintve, a táplálékok nem okoznak olyan környezeti változást, amely károsan befolyásolná a titán kompakt és oxidatív tényezőknek ellenálló felületi rétegét. A napi szájjápolásban résztvevő és a megelőzésben használt fluorid tartalmú szerek viszont hatással lehetnek a már kialakult oxidrétegre és annak stabilitására.

Munkám első részében azt vizsgáltam, hogy milyen felületi elváltozásokat okozhatnak a fenti szájjápolási szerek. A továbbiakban pedig a készítményekkel már kezelt felszíneken megtapadó különböző baktériumok viselkedését kísértem figyelemmel.

## 2. Az értekezés célkitűzése

1. Kvantitatív mérésekkel összehasonlítani a különböző fluorid-koncentrációjú és pH-értékű prevenciók anyagok hatását a titán felületi érdességére.
2. Vizsgálni a felületi titán-dioxid réteg változását, a különböző fluoridtartalmú és pH-jú prevenciók készítményekkel történő kezelés után.
3. Különböző szerekkel kezelt titán felszíneken követni a baktériumok megtapadását és elszaporodását.
4. A peri-implantitis kialakulásában szerepet játszó, és ezáltal az implantátum körüli csontlebontódást elősegítő *Porphyromonas gingivalis*-ből származó fehérje mennyiségének mérésével következtetni a felületi változás és a biofilm mennyiségének összefüggésére.

## 3. Anyagok és módszerek

### 3.1. Titán próbatestek tisztítása és felületi kezelése

A vizsgálatokhoz 9 mm átmérőjű, 2 mm vastag, mechanikusan polírozott, 4-es tisztasági fokozatú (CP grade 4) titán próbatest korongokat (Camlog, Biotechnologies AG, Svájc és Protetim, Magyarország) használtam. Ezek felületi érdessége a szájba ültetett implantátum nyaki egyenetlenségének felelt meg, vagyis a mért értékek nem haladták meg a  $0,2\ \mu\text{m}$ -t. A korongokat ultrahangos tisztítással 15-15 percig etanollal és acetonnal tisztítottam, majd a felületeket desztillált vízzel lemostam. Száradás után az implantátumok egy részét kontrollként használtam, amikor a korongokat egyáltalán nem kezeltem fluoridos készítményekkel. A vizsgált csoportok esetében tiszta felületre vittem fel a fluorid tartalmú anyagokat: a) a

szájöblítőt, b) a gél, c) az általunk készített NaF oldatot. Az öblítőben (Elmex, GABA International AG, Svájc) szerves amin-fluorid (cF = 250 ppm) volt jelen a nátrium-fluorid mellett [olaflur: bisz(hidroxietyl)-aminopropil-*N*-(hidroxietyl)-oktadecilamin dihidrofluorid]. A gél (Elmex, GABA GmbH, Németország) kétféle organikus fluoridot tartalmazott: olaflurt és dectafhurt (hexadecilamin hidrofluorid), amelyek koncentrációja 12500 ppm volt. Az 1%-os NaF oldat pH-ját tejsavval 4,5-re (3800 ppm fluorid) és 6,5-re (4159 ppm fluorid) állítottuk be. Egy óra elteltével az öblítőt, a gél, és az oldatot desztillált vízzel lemostuk. Ezután az összes mintatestet a kontroll csoporttal együtt hőlég-sterileztük (160 °C, 45 perc), majd sterilen tartó fóliába csomagoltuk.

### 3.2. Mikrobiológiai feldolgozás

Krónikus fogágybetegségben szenvedő páciensből, steril papírcsúccsal, a gingivális tasakokból mintát vettünk, miután vattarolnival izolált környezetben a fogfelszín 70%-os alkohollal megtisztítottuk és steril vattagombóccal szárítottuk. A három legmélyebb tasakból, illetve az infekciót mutató tasakokból steril papírpóénokkal történő mintavétel után, a papírpóénokat 15 másodpercig a tasakban tartottuk, majd Portagerm multitransport médiumba helyeztük (bioMérieux, S.A., Marcy l'Etoile, Franciaország). A mintákat 1 órán belül mikrobiológiai laboratóriumba szállítottuk, amelyeket 1,0 ml redukált Brain Heart Infusion (BHI pH 7,2) levesben (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) homogenizáltuk. A törzsoldatból 100 µl-t szelektív és nem-szelektív agar táptalajokra vittünk. 5% (v/v) marhavérrel, haeminnel és K<sub>1</sub> vitaminnal kiegészített Columbia agart használtunk az összes tenyésztendő anaerob baktérium izolálására és szemikvantitatív csíraszámolására. Az aerob baktériumflóra izolálására és csíraszámolásra, Columbia főtt véres (csokoládé) agart alkalmaztunk. Az *Enterobacteriaceae* speciesek szelektív tenyésztésére Endo agart (bioMérieux, S.A., Marcy l'Etoile, Franciaország), a gombák tenyésztésére Sabouroud Dextrose agart használtunk. A feketén pigmentált anaerob Gram-negatív baktériumok (*Prevotella* sp., *Porphyromonas* sp.) izolálása Kanamycin Vancomycin Laked Blood Agar (KVLB) (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) készítményen történt. A *Proteus* spp. törzseinek megjelenésére és a proteusok csillóinak blokkolására, valamint a rajzás gátlására fenil-etil-alkoholos (PEA) (Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) agart használtunk. A tenyészeteket 5 napig anaerob kamrában (Bactron Sheldon Man, Oregon, USA), anaerob atmoszférában (90% N<sub>2</sub>, 5% H<sub>2</sub> és 5% CO<sub>2</sub>), illetve aerob módon 24 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk. Folyékony dúsítóként glükózos bouillon, illetve húsos bouillon táptalaj szolgált. A kitenyésztett baktériumokat és gombákat szemikvantitatív csíraszám meghatározással adtuk meg, species szinten hagyományos és/vagy ATB/VITEK (bioMérieux, S.A., Marcy l'Etoile, Franciaország) módszerrel identifikáltuk. A baktérium szuszpenzióból haladéktalanul 2 ml-es adagokat helyeztünk 24-lyukú steril mikrotiter lemezre, melyen különbözően előkezelt Ti korongok voltak elhelyezve úgy, hogy a szuszpenzió a korongokat teljesen befedte. 2-4-7 napos, a

tenyésztéssel azonos körülmények között történő inkubálás után, a korongokat kivettük és a további vizsgálatokat elvégeztük.

*Streptococcus mutans* ATCC 25175 kontroll törzs tenyészetéből BHI pH 7,2 levesben 0,5 McFarland sűrűségű ( $10^5$  CFU/ml) szuszpenziót készítettünk. A jelölt titán korongokat egyenként steril Petri-csészébe helyeztük, majd mindegyikre 20-20 ml *S. mutans* tartalmú BHI szuszpenziót mértünk. A korongokat tartalmazó Petri-csészéket 5 napon át, 37 °C-on, 5% CO<sub>2</sub>-ot tartalmazó légkörben tartottuk.

#### *Porphyromonas gingivalis* törzs előkészítése

A tenyésztéshez 5% (v/v) marhavérrel, haeminnel és K<sub>1</sub> vitaminnal kiegészített Columbia agart alkalmaztunk. A vizsgálathoz *P. gingivalis* ATCC 33277 (American Type Control Collection) kontroll törzset használtunk, amelyet 90% N<sub>2</sub>, 5% H<sub>2</sub> és 5% CO<sub>2</sub>-t tartalmazó anaerob inkubátorban (Bactron from Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, Oregon, USA) 48 órán keresztül 37 °C-on inkubáltunk. A szilárd agar táptalajon tenyésztett törzset fáziskontraszt mikroszkóp alatt, aerob agar lemezen ellenőriztük, majd a telepeket redukált levesben (BHI, pH 7,2, Oxoid, Basingstoke, Egyesült Királyság) szuszpendáltuk (McFarland 1,0 hígítás =  $10^5$  CFU/ml baktérium). Ebből a szuszpenzióból 2-2 ml-t 24-lyukú steril mikrotiter lemezre helyeztünk, melyen az előkezelt Ti korongok voltak elhelyezve. A tenyésztéssel azonos anaerob körülmények között történő 5 napos inkubálás után, a korongokat kivettük a szuszpenzióból és további vizsgálatoknak vetettük alá.

### 3.3. Atomierő mikroszkópos (AFM) vizsgálatok

A titán felület érdességének vizsgálatához atomi erő mikroszkópot (PSIA XE-100, Dél-Korea) alkalmaztunk. Az AFM módszer a minta felületének domborzatáról ad információt, nanométeres nagyságrendű feloldóképességgel. A berendezés pásztázó szondát (tü) mozgat a felület közelében. A szonda szilícium-nitridből készül (típusa: P/N 910M-NSC36, MikroMasch Eesti OU, Észtország), amelyet laprugó végére rögzítettek. A türe ható, a minta felületi jellegzetességeitől függő vonzó- és taszító erők a laprugó elhajlását idézik elő, amelynek detektálása a rugó aranyozott felületéről visszaverődő lézernyaláb fotódiodás érzékelésével történik. Az érzékelt jelet, a rendszer a pásztázott kétdimenziós felület harmadik dimenziójaként jeleníti meg, így adva térbeli képi formát a detektált információnak. A méréseket levegőn, ún. kontakt üzemmódban végeztük, majd két- ill. három-dimenziós (3D) képeket is készítettünk. A felszín érdességét az atomi erő mikroszkóp programja által megadott R<sub>a</sub> értékkel jellemeztem és a felszín barázdáinak megjelenítésére keresztmetszeti képanalízist végeztünk.

### 3.4. A titánfelszín kémiai összetételének vizsgálata

Röntgen fotoelektron-spektroszkópiás (XPS) módszerrel a felszín kémiai összetételéről és szerkezetéről kapunk információt mintegy 100 Å mélységig. A módszer a röntgen foto-

nok korpuszkuláris, elsősorban szilárd anyaggal való kölcsönhatásán alapszik, amikor a mérések során röntgensugarat bocsátunk a vizsgálandó minta felszínére. A röntgensugárzást az anód nagyenergiájú elektronokkal való bombázásával állítják elő. Az általunk használt Kratos XSAM 800 típusú XPS készülék Mg  $K_{\alpha}$  sugárforrással rendelkezik. A megfelelően nagy energiájú ( $h\nu = 1253,6 \text{ eV}$ ) röntgen fotonok, a vizsgált atomoknak nemcsak a külső, de a belső héjain elhelyezkedő ún. törzselektronjait is képesek eltávolítani, vagyis az atomokat ionizálni. Vákuumban végeztük a vizsgálatokat. A kilépő fotoelektronok átlagos szabad útjának a hossza elegendő nagyságú ahhoz, hogy ezek szóródás nélkül eljussanak az analizátorba és a detektorba. A negatív töltésű részecskék kettős félgömb alakú analizátorba jutnak, amely energiájuk szerint szétválasztja őket és előállítja azt a spektrumot, amely a vizsgált minta felületére jellemző információt hordozza. A korszerű spektrométerek számítógépes vezérléssel működnek és az értékelés a felvett spektrumok alapján történik.

Külön vizsgáltam a fluoridos gél felületi kötődésének erősségét. A felszín tisztítására és a felületi szennyeződés rétegenkénti eltávolítására argon-ionos, kis energiájú, rövid időtartamú porlasztást alkalmaztunk. A géllal kezelt titán felületet 10 percig argon-ionokkal bombáztuk, és ezzel mintegy 10 nm vastagságú réteget távolítottunk el. A felület ilyen „tisztítása” után, a titán korongok felszínét ismét XPS vizsgálatnak vetettük alá.

### 3.6. Pásztázó elektronmikroszkópos eljárás (SEM)

A baktérium telepek pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatához, a baktériumok inkubációja után minden mintát dehidratáltunk. Ehhez a baktérium biofilmet olyan etanolos oldatba helyeztük, melyeknek alkohol tartalmát fokozatosan 30-50-70-100%-ra emeltük. Ezután a mintákat etanol-aceton elegyében tartottuk, ahol a következő megoszlást alkalmaztuk: 90–10, 70–30, 50–50, 30–70, 10–90 és 100% acetone. Kritikuspont szárítás után (SPI 1320), a mintákat Edwards módszerével aranyoztuk, majd Hitachi S 2400 pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

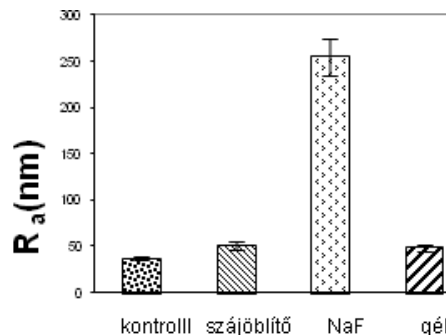
### 3.7. Bakteriális fehérjevizsgálat

A *Porphyromonas gingivalis* baktérium fehérjemennyiségét a mikro Coomassie (Bradford) protein assay kit segítségével (Pierce, Rockford, IL, USA) határoztam meg. A felszínre tapadt baktériumokat 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 1 mM EGTA, 1% Triton X-100, 2,5 mM nátrium-pirofoszfát, 1 mM  $\beta$ -glicerín-foszfát, 1 mM  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  és 1  $\mu\text{g/ml}$  leupeptin oldattal mostam le. E vizsgálati módszert a baktériumok megtapadására és mennyiségi ellenőrzésére használtam, a különböző fluoridtartalmú anyagokkal kezelt felszíneken. Megjegyzendő, hogy az alkalmazott módszer nem tesz különbséget élő vagy elpusztult baktériumokból származó fehérjék között.

## 4. Eredmények

### 4.1. A titán felületi érdességének változása fluorid tartalmú, savas prevenciós anyagok hatására

AFM eljárással végzett mérések során, a kísérleteinkben használt titán korongok felületének érdessége megegyezett a beültetett implantátum transzmukozális részének érdességével. Ezt az értéket a nemzetközi irodalomban található  $R_a$  értéknek megfelelően, átlagosan  $R_a = 37.0 \pm 2$  nm-nek találtam. A különböző fluorid tartalmú, savas kémhatású prevenciós szerek azonban az  $R_a$ -t módosították. Így a szájöblítővel kezelt felszínen  $R_a = 51,3 \pm 4$  nm-t, a géllal kezelt felszínen,  $R_a = 48,6 \pm 3$  nm-t mértem. Különösen magas értéket találtam az 1% NaF oldatnál, itt az  $R_a = 254,8 \pm 19$  nm-nek adódott. Összehasonlítva a kezelt felületek eredményeit a kontroll értékekkel, megállapítottam, hogy az érdesség a fluoridos készítményekkel kezelt felületen szignifikánsan nőtt (1. ábra).



1. ábra

Kontroll és szájöblítővel, NaF-dal illetve prevenciós géllal kezelt titán korongok felületének érdessége (AFM mérések).

### 4.2. A titán felületének kémiai módosulása fluorid tartalmú, savas kémhatású prevenciós anyagok hatására

**4.2.1.** A felület kémiai összetételének változását XPS vizsgálatokkal követtem. A kontroll mintánál és a szájöblítővel kezelt felületeknél O, Ti és C jelenlétét állapítottam meg. A szén a levegőből kötődött a minta felületére, megjelenése azonban nem hátrányos az implantátum felületén. A Ti és O jelenléte bizonyítja a felületen kialakult  $TiO_2$  réteg jelenlétét. Nyomokban található még Ag, Cu, Zn és Na, ezek azonban nincsenek hatással a felületi tulajdonságokra. A felület 1% NaF-dal kezelve, a kontroll mintán megtalálható XPS csúcsok mellett három új kiemelkedést figyeltem meg. Az 1080 eV kötési energiánál a Na 1s kiemelkedés a Na jelenlétére utal. Két másik csúcs jelent meg a 600-700 eV kötési energiáknál: a 600 eV-nál észlelt jel az F KLL-ből származik és fluorid jelenlétére utal. A 685,3 eV-nál lévő F 1s csúcs a  $Na_2TiF_6$  komplexből ered, amely módosítja a titán felületén lévő  $TiO_2$  réteget.

Ugyanezen új csúcsok az Elmex géllal kezelt felületek vizsgálatakor is megtalálhatók, ami azt mutatja, hogy ennél a felületkezelésnél is módosul a  $\text{TiO}_2$  réteg.

**4.2.2.** 10, 20 és 30 percig tartó argon-ionos felületi bombázás után, az XPS változatlan F 1s csúcsot mutat (684.7 eV). Ez a vizsgálat azt bizonyítja, hogy a Ti és F közötti kötés erős és hogy a fluorid a  $\text{TiO}_2$  réteget módosította.

### **4.3. Pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálat baktérium inkubáció után**

**4.3.1.** A titán korongok felületét krónikus parodontitiszben szenvedő páciensről nyert baktérium flórával inkubáltuk és 2-4-7 nap elteltével SEM vizsgálatokat végeztünk. A kontroll csoportnál 2 nap múlva a baktériumok letapadását észleltem. E baktériumok proliferációja egyre nagyobb területen megfigyelhető, ami 7 nap után a baktériumok összekapcsolódását, és biofilm kialakulásának kezdeti lépéseit eredményezte.

1%-os NaF tartalmú, pH 4,5 oldattal kezelt felületen, az előbbinél hamarabb elkezdődött a baktériumok aggregációja. Kapcsolódásuk a felszínen már 2 nap múlva észlelhető. 4 napos inkubáció után, „kukoricacső” elrendeződés alakul ki, ami a biofilm kialakulásának egyik lépése. A baktériumok mennyisége nem nőtt, de a biofilm képződése felgyorsult.

6,5 pH-jú 1%-os NaF oldattal kezelt felszínen, a biofilm kialakulásának lépései szintén megfigyelhetők. 7 nap inkubáció után, kokkuszok, pálcák és fonal alakú baktériumok több rétegben egyaránt megtalálhatók. A biofilm mennyisége jelentős, érettsége fokozódott.

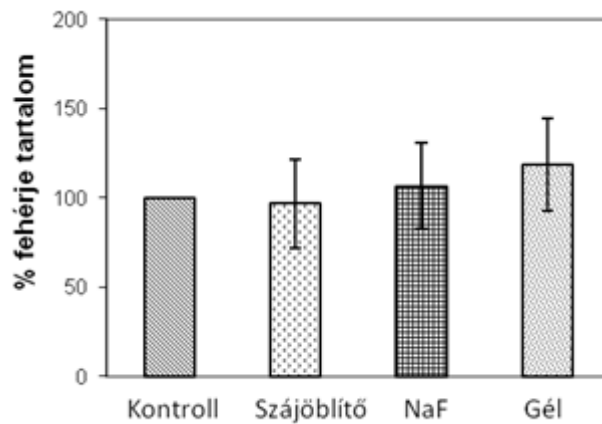
**4.3.2.** *S. mutans* 5 napos inkubálása után a kontroll és a szájöblítővel kezelt minta felszínén baktériumok láthatók, miközben kitapadásuk megkezdődött. A baktérium sejtek egy rétegben találhatók. 1%-os NaF oldattal (pH 4,5) kezelve, számuk megsokszorozódott, emellett a titán korong felületét a baktériumok több rétegben befedik. A baktériumsejtek által termelt, glikokalix réteg jelenlétét is észlelni lehet. Elmex prevenció géllal kezelt korongon, 5 nap inkubáció után jól látható a *S. mutans* sejtek megtapadása. Bizonyos helyeken a biofilm érése előrehaladott, több rétegű, glikokalix réteggel bevont baktériumok figyelhetők meg. Emellett, jelentkeznek gél által előidézett korróziós lyukak, amelyekben a baktériumsejtek megtapadnak, és ezeket hagyományos fogmosással eltávolítani nem lehet.

**4.3.3.** *P. gingivalis* inkubálva, 5 nap után a baktériumsejtek a kontroll mintán megtapadnak, nem borítják be a teljes felszínt, de szaporodásuk csoportokban elkezdődik. Az Elmex szájöblítővel kezelt titán korongon viszont a baktériumok mennyisége megnő és a biofilm kialakulásának kezdeti lépései jól láthatók. 1%-os NaF oldattal (pH 4,5) kezelt korongok felszínén, a baktériumok több rétegben találhatók, kialakul a biofilm, amelynek felszínét glikokalix borítja. Helyenként, a géllal előkezelt mintán vastag poliszacharid réteg található, ami a baktériumok felszínén védelmet biztosít.

### **4.4. Bakteriális fehérje vizsgálat**

Azt találtam, hogy a kezelt felzíneken a baktérium fehérje és így a *P. gingivalis* mennyisége a kontrollhoz képest kissé, de nem szignifikáns mértékben nőtt, ami annak követ-

kezménye, hogy a *P. gingivalis* inkubációja mindössze 5 napig tartott és bár a biofilm kialakulása megkezdődött, a nagyobb baktérium tömeg kialakulásához ez az időtartam nem volt elegendő.



2. ábra

Baktériumfehérje mennyiségének meghatározása a kontroll mintához képest, különböző felületi kezelések után. A grafikon százalékos megosztásban mutatja a baktériumok fehérje tartalmát.

## 5. Következtetések

A titán, implantátum formájában jól alkalmazható az emberi testben, mert biokompatibilis, ellenáll az oxidációs hatásoknak, nem korrodálódik és a felületén képződő oxidréteg stabilissá teszi. A fémet fogászatban alkalmazva, a szájüregben olyan anyagokkal kerülhet kapcsolatba, amelyek erősen redukтивak és megbontják a felszínén kialakult oxidréteget. A különböző szájöblítő folyadékok, prevencióra alkalmazott gélek fluorid tartalma és savas pH-ja változásokat indít el az implantátum-műcsont és az implantátum szájüreggel érintkező felszínén, amelyek módosítják a transzmukozális felszínt, ezáltal az implantáció hosszú távú sikerességét károsan befolyásolják.

A beültetett titán műgyökér gingiván átnyúló felületének érdekessége nem haladhatja meg a  $0,2\ \mu\text{m}$ -t. AFM vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy titán korongjaink felületi érdekessége megfelel a szabványnak. Prevenciók hatására, az érdekesség értéke szignifikánsan nő, ami elősegíti a baktériumok megtelepedését, ezzel a hámtapadás sikerességét rontja a szájban. Elmex gélt alkalmazva, a minta felületén mély korróziós lyukak keletkeznek, de a felületi egyenetlenség nem olyan nagymértékű, mint az 1%-os NaF-oldattal kezelt korongoknál. Mivel Elmex szájöblítőt sok beteg használ, a fogorvosnak fontos tudnia, hogy a fluoridtartalmú prevenciók milyen hatással vannak a szájban használt titán tartalmú fogművekre, implantátumokra és fogszabályozó eszközökre.

XPS mérésekkel megállapítottuk, hogy a kontroll csoport és a szájöblítővel kezelt titán korong felszíne egyforma, és ezeken O, Ti és C jelenléte detektálható. A magasabb fluorid tartalmú géllal és az 1%-os NaF-oldattal kezelt próbatesteknél azonban ezeken az elemeken



kívül, a hexafluorotitanát(IV) komplex ( $\text{Na}_2\text{TiF}_6$ ) csúcsa is megjelenik. A komplex erősen kötődik a felületen, eltávolítani még argonion-sugárral sem lehet, ezért a  $\text{TiO}_2$  réteg sérül és a korrózió veszélye megnő. Elsősorban gyermekeknél ajánlják és használják a nagyobb fluorid-tartalmú prevenciós géleket (Elmex), amelyek viszont a rögzített braketeket és drótokat is korrodálhatják.

A fenti felületi kezelések mind a Ti korongokra inkubált krónikus periodontitiszes vegyes baktérium flórának, mind pedig a *S. mutans* és *P. gingivalis* akkumulációjának kedveznek. SEM mikroszkópos képek azt mutatták, hogy a baktérium sejtek száma, néhány nap alatt nő a kezelt titán felszíneken, ellentétben a nem kezelt kontroll mintákkal. A biofilm kialakulásának lépései minden esetben jól követhetők a próbatesteken. Azt tapasztaltuk, hogy a kezelt titán mintákon biofilm keletkezik, amelynek érési folyamata felgyorsul. Magasabb fluoridkoncentráció és savas pH együtt, növeli a titán felszíni érdességét és korróziós elváltozásokat okoz. Ezeken a felületeken a baktérium sejtek jól megtapadtak és eltávolításuk a napi rutin fogmosással nehézkes.

Inkubáció után, a *P. gingivalis* fehérje mérése azt mutatta, hogy a kezeletlen (kontroll) titán korongok felszínén lévő baktériumokból származó fehérje kevesebb, mint a többi mintáról származó fehérje mennyisége. Ez a különbség azonban csak nagyon kicsi, így nem szignifikáns. Vizsgálatainkban, a baktériumot mindössze 5 napig inkubáltuk a felszínen, ami nem elegendő ezek jelentős elszaporodására, ellentétben az irodalomban talált adatokkal, ahol az eljárásokhoz hosszabb inkubációs időt alkalmaztak.

## Új megállapítások

1. A különböző eljárásokkal kezelt titán felületi érdessége szignifikánsan nő a kontroll minták felszínéhez képest.
2. Nagyobb fluoridtartalmú anyagokkal (prevenciós gél, 1%-os NaF oldat) kezelt mintáknál, a próbatestek felületének kémiai összetétele megváltozik, mert hexafluorotitan komplex ( $\text{Na}_2\text{TiF}_6$ ) képződik, ami jelentősen módosítja a titán felszínének oxid rétegét.
3. Az összes baktérium inkubációja után végzett SEM vizsgálatok azt mutatták, hogy a baktériumok a felszínre tapadnak és szaporodásuk megindul.
4. 1%-os NaF-oldattal vagy Elmex géllal való kezelés hatására, a felszínhez kötődő baktériumok száma nő, és a biofilm létrejöttének folyamata felgyorsul a kontrollal vagy a száájöblítővel kezelt felszínhez hasonlítva.
5. Titán felületi kezelés után, a baktériumfehérje mennyisége kissé, de nem szignifikánsan emelkedett.

## 6. Összefoglalás

A fogszuvasodás megelőzése céljából használt, jelentős fluorid tartalmú és savas pH-jú készítmények, nem kívánatos módon megváltoztathatják a titánból készült fogművek felületi szerkezetét a szájban. Ezt azzal magyarázzuk, hogy míg az oxidatív hatások a titán felüle-

tén lévő titán-dioxid réteg vastagításával és tömörítésével javítják a fém korrózióvédelmét, az erőteljes redukív hatás, amit a fluoridok okozhatnak épp ellenkezőleg, károsítja a felületet, ami a titán kémiai ellenállását csökkenti. Munkámban tanulmányoztam a különböző fluorid tartalmú fogápoló szerek hatását a titán felületén található oxidrétegre. Különböző baktériumokat inkubáltam a készítményeket kezelt felszíneken és nyomon követtem ezek megtapadását, szaporodását és a biofilm képződését.

Kísérleteimhez implantátumok készítésére szolgáló ún. tiszta titánból (CP grade 4) gyártott próbatesteket használtam. A felületeket fluoridos szájléblítővel, a nagyobb fluorid koncentrációjú, általunk készített 1%-os NaF oldattal és a prevencióban alkalmazott géllal kezeltem. A kezelések felületi struktúrára gyakorolt hatását atomi erő mikroszkóppal (AFM) és röntgen fotoelektron spektroszkópiával (XPS) tanulmányoztam. A titán minták felszínére krónikus parodontitiszes beteg szájából vett vegyes baktérium flórát, izolált *Sreptococcus mutans* és *Porphyromonas gingivalis* baktériumokat inkubáltam és ezek képi megjelenítéséhez pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) módszert alkalmaztam. Emellett a *P. gingivalis* fehérjemennyiségét is meghatároztam.

## 7. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm, Dr. Radnai Márta és Dr. Turzó Kinga témavezetőimnek a Ph.D. munkák során nyújtott segítségét, hasznos tanácsaikat és támogatásukat. Köszönet illeti Prof. Dr. Fazekas Andrást, aki kezdettől támogatta klinikai tevékenységemet és a tudományos kutatásokba bevezetett. Megköszönöm Dr. Urbán Editnek (Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet, Általános Orvostudományi Kar, SZTE) a mikrobiológiai rész előkészítéséhez adott útmutatásait és értékes tanácsait. Az XPS vizsgálatok kivitelezésében nyújtott segítségért Dr. Oszkó Albertnek (Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, Természettudományi és Informatikai Kar), a SEM felvételek elkészítéséért Dr. Mihalik Erzsébetnek (Növénybiológiai Tanszék, Természettudományi és Informatikai Kar, SZTE) tartozom köszönettel. Köszönöm Prof. Dr. Rakonczay Zoltán és Dr. Pelsőczy Kovács István (Fogorvostudományi Kar, SZTE) szakmai segítségét. Megköszönöm Prof. Dr. Nagy Katalinnak, a Fogorvostudományi Kar dékánjának támogatását.

Köszönöm családom türelmét, melyet tudományos munkám elkészítésekor tanúsított.

## 8. Az értekezés alapját képező közlemények

**Stájer A.,** Radnai M., Pelsőczy K. I., Turzó K., Oszkó A., Fazekas A.: Fluoridok hatása titán implantátumok felületi szerkezetére.

*Fogorv Szemle* 99; (2) 53-59, 2006.

**Stájer A.,** Ungvári K., Pelsőczy-K. I., Polyánka H., Oszkó A., Mihalik E., Rakonczay Z., Radnai M., Kemény L., Fazekas A., Turzó K.: Corrosive effects of fluoride on titanium:

Investigation by X-ray photoelectron spectroscopy, atomic force microscopy, and human epithelial cell culturing.

*J Biomed Mater Res A*. 87; (2):450-458, 2008.

IF: **2,706**

**Stájer A.**, Urbán E, Mihalik E, Rakonczay Z., Nagy E, Fazekas A., Turzó K., Radnai M., Nagy K.: A *Streptococcus mutans* kolonizációja különböző fluoridot tartalmazó prevenciósi oldatokkal kezelt titánfelszínen.

*Fogorv Szemle* 102; (3): 117-122, 2009.

**Stájer A.**, Urbán E., Pelsőczy K.I., Mihalik E., Rakonczay Z., Nagy K., Turzó K., Radnai M.: Effect of caries preventive products on the growth of bacterial biofilm on titanium surface.

*Acta Microbiol Immunol Hung* 59;(1): 51-61, 2012.

IF: **0,787**

Összesített impakt faktor: **3,493**

## 9. Egyéb közlemények

**Stájer A.**, Radnai M., Fazekas A., Mechler Á.: Egyéni szájhygiénés módszerek és professzionális plakmentesítő eljárások hatása a titán implantátumok transzmukozális részének felszínére.

*Magyar Fogorvos* 10, 64-68, 2001.

## 10. Idézhető előadáskivonatok

K. Turzo, **A. Stájer**, K. Ungvari, I. K. Pelsőczy, H. Polyanka, A. Oszko, D. Matusovits, E. Mihalik, Z. Rakonczay, M. Radnai, A. Fazekas: Investigation of the corrosive effects of fluoride on titanium. 0289 (85184)

IADR PEF Dublin September 13-16, 2006 *J Dent Res* 85, p. 183 PEF, 2006

IF abstract: **3,475**

**Stájer, A.**, Radnai, M., Turzó, K., Pelsőczy, I. K., Oszkó, K., Fazekas, A.: Effect of fluoride content of the oral hygienic products on the surface structure of titanium.

A Magyar Fogorvosok Egyesülete XVII. Árkövy Vándorgyűlése, Elhangzott előadások absztraktjai. Debrecen, 2006. augusztus 31-szeptember 2. –

*Fogorvosi Szemle* 99, (6) 256, 2006

Urbán E., **Stájer A.**, Turzó K., Mihalik E., Rakonczay Z., Nagy E., Radnai M.:

Effect of fluoride content of the oral biofilm on the surface of titanium.

*Clinical Microbiology Infection* 14: Suppl. 7. S174, 2008

IF abstract: **3,554**

**A. Stájer**, E. Urbán, K. Turzó, E. Mihalik, Z. Rakonczay, E. Nagy, A. Fazekas, K. Nagy, M. Radnai: Effect of flouride content of the oral biofilm on the surface structure of titanium. O-48 p. 82.

32nd Annual Congress of European Prosthodontic Association

Pécs, 4-6 September, 2008

*Impakt faktor: 7.029*

## 11. Az értekezés témakörében tartott előadások

1. **Stájer A.**, Fazekas A., Pelsöczy K. I.: Különböző sterilizálási eljárások hatása titán implantátumok felszínére. Magyar Fogorvosok Implantológiai Társaságának II. Kongresszusa. Szeged, 1995. november 3-5. Abstr. 27.
2. **Stájer A.**, Fazekas A., Radnai M.: A sterilizálás hatása az enosszális implantátumok felszínére. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 1995. november 24.
3. Perényi J., Fazekas A., Vajdovich I., **Stájer A.**: Implantátumok mechanikai rögzítettségének *in vitro* vizsgálata. Abstr. 54. A Magyar Fogorvosok Egyesülete Fogpótlástani Társaságának XII. Vándorgyűlése és Implan-tológiai Társaságának III. Kongresszusa. Szeged, 1997. október 23-26.
4. **Stájer A.**, Kozma M., Fazekas A., Radnai M.: Titán implantátum felületi struktúrájának vizsgálata AFM mikroszkóppal. A Magyar Fogorvosok Egyesülete Fogpótlástani Társaságának XII. Vándorgyűlése és Implantológiai Társaságának III. Kongresszusa. Szeged, 1997. október 23-26. Abstr. 71.
5. **Stájer A.**, Fazekas A.: A titán implantátumok felszínének jellemzői és vizsgálata. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 1998. május 8.
6. **Stájer A.**, Mechler Á., Fazekas A., Bor Zs.: Egyéni szájhigiénés módszerek és professzionális plakkmentesítő eljárások hatása a titán implantátumok nyaki transzmukozális felszínére. pp. 115. Magyar Fogorvosok XV. Jubileumi „Árkövy” Kongresszusa Budapest, 1998. augusztus 25-29.
7. **Stájer A.**, Mechler Á., Fazekas A., Bor Zs.: Egyéni szájhigiénés módszerek és professzionális plakkmentesítő eljárások hatása titán implantátumok nyaki transzmukozális felszínén. pp. 20. Szeged '99 Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 1999. május 7-8.
8. **Stájer A.**, Fazekas A., Mechler Á., Bor Zs.: Fluorid tartalmú szájápoló szerek hatása titán implantátumok nyaki felszínére. Magyar Fogorvosok Implantológiai Társasága 10. Jubileumi Kongresszusa. Balatonfüred, 1999. június 18-20. Absztr. 14.

9. **Stájer A.**, Mechler Á., Fazekas A., Bor Zs.: Fluorid tartalmú anyagok hatása a titán implantátumok felszínére. Absztr. 29. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó, Szeged, 2000. május 6.
10. M. Radnai, K. Turzó, **A. Stájer**, I. K. Pelsőczy, K. Ungvári, H. Polyánka, Á. Koós, A. Oszkó, A. Fazekas: Effect of fluoride on the surface structure of titanium. Poster 1th International CAMLOG Congress 2006, Montreux Switzerland, May 11-13, 2006
11. **Stájer A.**, Radnai M., Turzó K., Pelsőczy K. I., Oszkó A., Fazekas A.: Fluoridos szájpótlási termékek hatása titán implantátum felszínére. Magyar Fogorvosok Egyesülete (MFE) Árkövy Vándorgyűlése Debrecen, 2006. augusztus 31-szeptember 2. Absztr. p.111.
12. Ungvári K., **Stájer A.**, Polyánka H., Turzó K., Pelsőczy K. I., Oszkó A., Matusovits D., Mihalik E., Rakonczay Z., Radnai M., Fazekas A.: Fluorid korróziós hatásának vizsgálata titán felszínen. Magyar Fogorvosok Egyesülete (MFE) Árkövy Vándorgyűlése Debrecen, 2006. augusztus 31-szeptember 2. Absztr. p. 133.
13. **Stájer A.**, Dr. Pelsőczy K. I., Turzó K., Urbán E., Mihalik E., Radnai M.: A *Porphyromonas endodontalis* kolonizációja különböző szájpótlási anyagokkal kezelt titán felszínen. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportja és az SZTE Fogászati és Szájsebészeti Klinika Tudományos Ülései Szeged, 2007. február 16.
14. Ungvári K., **Stájer A.**, Polyánka H., Pelsőczy K. I., Oszkó A., Mihalik E., Rakonczay Z., Radnai M., Kemény L., Fazekas A., Turzó K.: Fluoridos készítményekkel kezelt titán korongok epithel sejt-kultúra vizsgálata. Absztr. 26., p. 45. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2007. április 21-22.
15. Turzó K., **Stájer A.**, Ungvári K., Pelsőczy K. I., Polyánka H., Oszkó A., Mihalik E., Rakonczay Z., Radnai M., Kemény L., Fazekas A.: Fluoridot tartalmazó profilaktikus készítmények titán felületre gyakorolt korróziós hatásának vizsgálata. Absztr. 32., p. 51. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2007. április 21-22.
16. **Stájer A.**, Pelsőczy K. I., Turzó K., Urbán E., Mihalik E., Nagy E., Rakonczay Z., Radnai M., Fazekas A.: Különböző szájpótlási anyagokkal kezelt titán felszínre inkubált *Porphyromonas gingivalis* kolonizációja. Absztr. 39, p. 58 Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2007. április 21-22.
17. Ungvári K., **Stájer A.**, Pelsőczy K. I., Radnai M., Turzó K., Rakonczay Z., Fazekas A.: Humán gingiva epithel sejt-kultúra vizsgálatok módosított Ti felszínen. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportja és az SZTE Fogászati és Szájsebészeti Klinika Tudományos Ülései Szeged, 2007. május 11.
18. **Stájer A.**, Oszkó A., Turzó K., Urbán E., Mihalik E., Nagy E., Rakonczay Z., Radnai M., Fazekas A.: *Porphyromonas gingivalis* kolonizációja kezelt titán felszínen. Absztr. 43., p. 60. MFE Fogpótlástani Társaság XVII., a Magyar Fogorvosok Implantológiai Társaságának VII., és a Magyar Parodontológiai Társaság XV. Közös Kongresszusa, Szent-Györgyi Albert 70 éve elnyert Nobel-díja emlékére Szeged, 2007. október 11-13.

19. **A. Stájer**, E. Urbán, K. Turzó, E. Mihalik, Z. Rakonczay, E. Nagy, A. Fazekas, K. Nagy, M. Radnai: Effect of flouride content of the oral biofilm on the surface structure of titanium. O-48 p. 82. 32nd Annual Congress of European Prosthodontic Association, Pécs, 4-6 September, 2008
20. Turzó K., **Stájer A.**, Ungvári K., Pelsőczy-K. I., Rakonczay Z., Fazekas A, Radnai M., Nagy K.: Fluorid és dekontamináló anyagok hatása titán felszínre. Absztr. 45. o. A XXI: század kihívásai a fogpótlásban Magyar Fogorvosok Egyesületének Fogpótlástani Társaság Továbbképző tanfolyama és XIX. Kongresszusa Hévíz, 2011. október 7-8.

## 12. A tézisek témájához nem tartozó előadások

1. **Stájer A.**, Olasz T.: A gyulladáscsökkentő szteroidok az endodontiában. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 1995. március 10.
2. Radnai M., Pelsőczy K. I., **Stájer A.**: A csontelőkészítés kedvezőtlen mellékhatásai és azok megelőzésének lehetősége. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 1995. október 20.
3. **Stájer A.**, L. Kókai E.: Pulpakövek. Irodalmi áttekintés esetismertetés kapcsán. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 1995. december 1.
4. **Stájer A.**, Ott J.: Lenyomatanyagok felületlemintázó képességének vizsgálata. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 2001. április 27.
5. **Stájer A.**, Somogyi R., Perényi J., Kertész A.: Csúsztatóval elhorgonyzott részleges kivehető protézis hatása a parodontiumra. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 2001. október 5.
6. **Stájer A.**, Hódi L.: Csökkent retenciójú teleszkópkoronák aktiválásának lehetősége. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 2003. november 14.
7. **Stájer A.**: *Helicobacter pylori* fogorvosi vonatkozásai. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülései Szeged, 2004. április 16.
8. **Stájer A.**, Radnai M.: Funkciós lenyomatvétele lötyögő, csontmag nélküli gerinc esetében. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportja és az SZTE FOK Fogászati és Szájsebészeti Klinika Tudományos Ülései Szeged, 2008. március 21.
9. **Stájer A.**: Teleszkóp koronák retenciósökkenésének okai; a korrekció lehetőségei. XV. Szent-Györgyi Napok Szeged, 2008. november 13-15.
10. László E., **Stájer A.**, L. Kókai E., Radnai M.: Hallermann-Streiff szindrómás beteg fogzatának helyreállítása (esetismertetés). MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportja és az SZTE FOK Fogászati és Szájsebészeti Klinika Tudományos Ülései Szeged, 2008. december 5.